

PTO 07-6136

CC=JP DATE=19940726 KIND=A
PN=06206815

PHARMACEUTICAL PREPARATION BASED ON
BLOCK COPOLYMER-ANTICANCER DRUG COMPLEX
[Burokku kyojyugoutai-kouganzai fukugoutai iyakuseizai]

Masayuki Yokoyama, et al.

UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
Washington, D.C. August 2007

Translated by: FLS, Inc.

PUBLICATION COUNTRY	(19):	JP
DOCUMENT NUMBER	(11):	94206815
DOCUMENT KIND	(12):	A
PUBLICATION DATE	(43):	19940726
APPLICATION NUMBER	(21):	PCT/JP/HEI5-261124
DATE OF FILING	(22):	19931019
ADDITIONAL NUMBER	(61):	
INTERNATIONAL CLASSIFICATION	(51):	A 61 K 9/107, 31/71, 31/765, 45/00, 47/34
PRIORITY	(30):	
INVENTORS	(72):	YOKOYAMA, MASAYUKI; KATAOKA, KAZUNORI; OKANO, MITSUO; SAKURAI, YASUHISA; SEI, FUJITAKA; FUKUSHIMA, SHIGETO; MACHIDA, MEGUMI; YOKUMOTO, HISAO; OKAMOTO, KAZUYA; MASHIBA, YOKO
APPLICANT	(71):	SAKURAI, YASUHISA; SHIN GIJYUTSU JIGYO DAN
DESIGNATED CONTACTING STATES	(81):	
TITLE	(54):	PHARMACEUTICAL PREPARATION BASED ON BLOCK COPOLYMER-ANTICANCER DRUG COMPLEX
FOREIGN TITLE	(54A):	BUROKKU KYOJYUGOUTAI-KOUGANZAI FUKUGOUTAI IYAKUSEIZAI

[Claim 1] A pharmaceutical preparation based on a block copolymer-anticancer drug complex characterized in that said block copolymer, comprising a hydrophilic polymer segment and a hydrophobic polymer segment to which said anticancer drug is not bonded and prepared by bonding a hydrophobic compound other than said anticancer drug to a block copolymer comprising said hydrophilic polymer segment and a polycarboxylic acid segment through a carboxyl group side chain attached to said polycarboxylic acid segment, forms a micelle such that said hydrophilic polymer segment constitutes an outer layer while said hydrophobic polymer segment constitutes an inner core and contains a sparingly water-soluble said anticancer drug in the hydrophobic inner core.

[Claim 2] The pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in Claim 1, wherein said hydrophilic polymer segment has a polyethylene glycol structure;

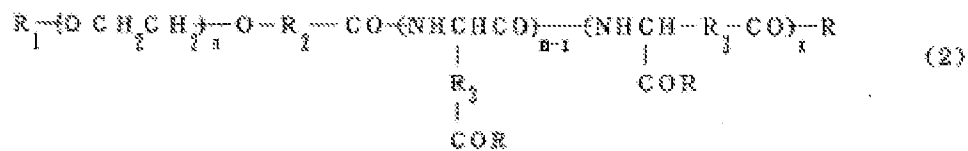
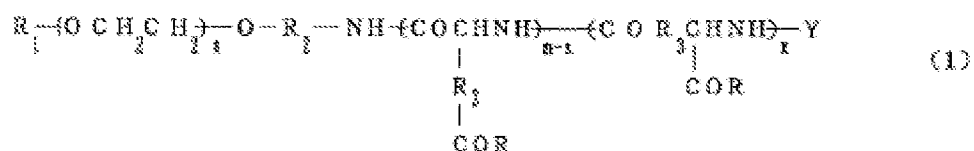
[Claim 3] The pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in Claims 1 or 2, wherein said hydrophobic polymer segment has a polyamino acid or its salt structure having an aliphatic and/or aromatic group residue in a side chain.

[Claim 4] The pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in Claims 1, 2, or 3, wherein said anticancer drug is an anthracycline-type anticancer drug.

* Paragraph numbers take place for the original pagination in the foreign text.

[Claim 5] The pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in Claims 1, 2, or 3, wherein said anticancer drug is adriamycin;

[Claim 6] The pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in Claims 1, 4, or 5, wherein micelle-forming high-molecular-weight said block copolymer has a structure as shown by the formula (1) or (2) below or their salt forms;



(In the above formulas, R_1 is a lower alkyl group or hydrogen atom; R_2 is a connecting group; R_3 is a methylene group or ethylene group; Y is hydrogen atom or protecting group; R is independently hydroxyl group, or a aliphatic or aromatic substituent group, but at least one of R 's is said substituent group; n is an integer of 5 ~ 1,000, m is an integer of 2 ~ 300, and x is an integer of 0 ~ 300, but x cannot be larger than m .)

[Claim 7] The pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in Claim 6, wherein Y is $-COR_4$ (R_4 is a lower alkyl group or an aromatic hydrocarbon group).

[Detailed Explanation of the Invention]

[0001] [Technical Field of the Invention]

The present invention relates to a pharmaceutical preparation based on a block copolymer-anticancer drug complex.

[0002] [Prior Arts]

It is a well-known technology to improve the solubility of a sparingly water-soluble anticancer drug by using materials such as a surfactant. However, a pharmaceutical preparation using the above technology has not been able to exhibit a pharmacological activity exceeding that of the anticancer drug itself.

[0003] [Problems to be Solved by the Invention]

The purpose of the present invention is to provide a pharmaceutical preparation based on a polymer-anticancer drug complex which exhibits improved water solubility and a pharmacological activity at a level higher than that of the anticancer agent itself when a sparingly water-soluble anticancer drug is used.

[0004] [Means to Solve the Problem]

The present inventors have done extensive research to solve the above inherent disadvantages with the hydrophobic anticancer drug. As a result, it has been discovered that a specific block copolymer-anticancer drug complex improves not only the water solubility of the hydrophobic anticancer drug, but also its pharmacological effect dramatically, which has lead to the completion of the present invention.

[0005] That is, the present invention relates to:

(1) a pharmaceutical preparation based on a block copolymer-anticancer drug complex characterized in that said block copolymer, comprising a hydrophilic polymer segment and a hydrophobic polymer segment to which said anticancer drug is not bonded and prepared by bonding a hydrophobic compound other than said anticancer drug to a block copolymer comprising said hydrophilic polymer segment and a polycarboxylic acid segment through a carboxyl group side chain attached to said polycarboxylic acid segment, forms a micelle such that said hydrophilic polymer segment constitutes an outer layer while said hydrophobic polymer segment constitutes an inner core and contains a sparingly water-soluble said anticancer drug in the hydrophobic inner core;

(2) the pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in (1), wherein said hydrophilic polymer segment has a polyethylene glycol structure;

(3) the pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in (1) or (2), wherein said hydrophobic polymer segment has a polyamino acid or its salt structure having an aliphatic and/or aromatic group residue in the side chain;

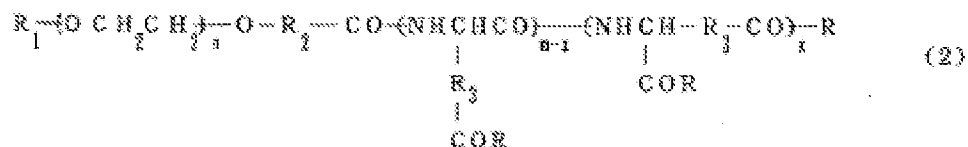
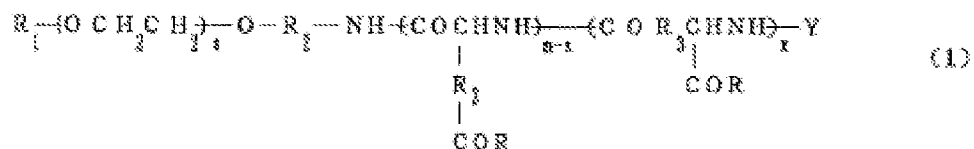
(4) the pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in (1), (2), or (3), wherein said anticancer drug is anthracycline-type anticancer drug;

(5) the pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in (1), (2), or (3), wherein

said anticancer drug is adriamycin;

(6) the pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in (1), (4), or (5), wherein micelle-forming high-molecular-weight said block copolymer has a structure as shown by the formula (1) or (2) below or their salt forms;

[0006] [Chemical formula 2]



[0007] (In the above formulas, R₁ is a lower alkyl group or hydrogen atom; R₂ is a connecting group; R₃ is a methylene group or ethylene group; Y is hydrogen atom or protecting group; R is independently hydroxyl group, or a aliphatic or aromatic substituent group, but at least one of R's is the above substituent group; n is an integer of 5 ~ 1,000, m is an integer of 2 ~ 300, and x is an integer of 0 ~ 300, but x cannot be larger than m.)

(7) the pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex as described in (6), wherein Y is -COR₄ (R₄ is a lower alkyl group such as methyl group, ethyl group and the like or an aromatic hydrocarbon group such as phenyl group and the like).

[0008] The pharmaceutical preparation of the present invention exhibits a high pharmacological effect and is water-soluble.

[0009] The present invention will be described in detail below.

[0010] As examples of the hydrophilic polymer segment of the present invention, polyethylene glycol, polysaccharide, polyacrylamide, polymethacrylamide, polyvinyl alcohol, polyvinylpyrrolidone, chitosan, and the like can be mentioned. However, there is no restriction in the selection of the segment as long as they have a hydrophilic polymeric structure. The most preferable segment is polyethylene glycol segment.

[0011] As examples of the hydrophobic polymer segment, a polycarboxylic acid, such as polyamino acid (polyaspartic acid, polyglutamic acid), polyacrylic acid, polymethacrylic acid, polymaleic acid and the like, with a side chain having a residue of the hydrophobic compound, such as aromatic amine, aliphatic amine, aromatic alcohol, aliphatic alcohol, aromatic thiol, aliphatic thiol and the like, or its salts (an alkali metal salt such as sodium salt, potassium salt, and the like), can be mentioned. As examples of hydrophobic compounds to be bonded to the side chain (carboxyl group) of the polycarboxylic acid, an aromatic amine such as aniline and the like, an aliphatic amine such as propylamine, stearylamine, and the like, an aromatic alcohol such as naphthol and the like, an aliphatic alcohol such as lauryl alcohol, benzyl alcohol and the like, an aromatic thiol such as benzenethiol and the like, an aliphatic thiol such as ethanethiol, phenylmethanethiol and the like, can be mentioned. However, hydrophobic compounds to be bonded to the side chain

will not be restricted to above compounds. Any compounds which can impart hydrophobicity to the polycarboxylic acid segment can be used. These compounds are bonded to the side chain (carboxylic acid) through an ester bonding, an amide bonding, or the like.

[0012] Although the molecular weight of the high-molecular-weight block copolymer is not restricted as long as it is water-soluble, it is preferably 1,000 ~ 100,000, or more preferably 5,000 ~ 50,000. Although there is no restriction in the ratio of the hydrophilic polymer segment to the hydrophobic polymer segment as long as the pharmaceutical preparation of the present invention maintains its water solubility, it is preferably 1:0.1 ~ 10 (weight ratio), or more preferably 1:0.2 ~ 5 (weight ratio).

[0013] In the above formula (1) or (2), R_1 represents lower alkyl group or hydrogen atom, preferably methyl group. Also, there is no restriction in the selection of R_2 as long as the water solubility of the block copolymer-anticancer drug complex of the present invention is not negatively affected. Also, the presence of R_2 is not a necessary condition. For example, alkylene groups with a carbon number of 1 ~ 8, preferably a carbon number of 2 ~ 4, for examples, methylene group ($-\text{CH}_2-$), ethylene group ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), propylene group ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$), trimethylene group ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), butylene group ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$) and the like, can be mentioned.

[0014] Also, n is 5 ~ 1,000, or preferably 15 ~ 400, while m is 2 ~ 300, or more preferably 10 ~ 100 and x is 0 ~ 300, or more preferably

0 ~ 100.

[0015] As anticancer drugs which can be encapsulated into a hydrophobic inner core of the micelle of the high-molecular-weight block copolymer, adriamycin, daunomycin, pirarubicin, methotrexate, mitomycin C, etoposide, cisplatin and the like and their derivatives, can be mentioned, but are not restricted to those mentioned above.

[0016] The concentration of the anticancer drug in the block copolymer-anticancer drug complex is preferably 1 ~ 200% by weight based on the weight of the block copolymer, or more preferably 2 ~ 60% by weight. However, there will be no problem in incorporating the anticancer drug in the block copolymer as much as possible as long as it will not affect the micelle formation of the block copolymer-anticancer drug complex.

[0017] The pharmaceutical preparation of the present invention can be manufactured, for example, as follows.

[0018] That is, a compound forming a hydrophilic polymer segment in the resulting block copolymer compound (for example, polyethylene glycol, polysaccharide, polyacrylamide, polymethacrylamide, polyvinyl alcohol, polyvinylpyrrolidone, chitosan, and the like or their derivatives) or its end group-modified derivative is reacted with a polymer compound containing a carboxyl group or a carboxyl group modified with a protecting group. When the obtained block copolymer has a protecting group, it is deprotected. Or a compound forming a hydrophilic polymer segment in the resulting block copolymer or its end group-modified derivative is reacted with a polymerizable carboxylic acid monomer or its derivative. When the obtained

block copolymer has a protecting group, it is deprotected. The obtained block copolymer comprising a hydrophilic polymer segment and a polycarboxylic acid segment is reacted with a hydrophobic compound to form a micelle-forming high-molecular-weight block copolymer. By encapsulating a sparingly water-soluble anticancer drug into a hydrophobic inner core of the obtained micelle-forming high-molecular-weight block copolymer, the pharmaceutical preparation of the present invention can be obtained.

[0019] Modification of the end group of the compound which forms a hydrophilic polymer segment in the resulting copolymer can be carried out using conventional methods. For example, as methods of converting a hydroxyl group to an amino group, reacting the hydroxyl group with ethyleneimine, reacting the hydroxyl group with acrylonitrile or methacrylonitrile through a Michael addition before reduction of the formed nitrile group, substituting the hydroxyl group with the halogen group before reacting with an alcoholamine such as ethanolamine, or directly converting the hydroxyl group to the nitrile group before reduction of the formed nitrile group, can be mentioned. Also, as methods of converting a hydroxyl group to a carboxyl group, conventional oxidation reaction, condensation reaction, addition reaction, and hydrolysis reaction, or a combination of the above reactions can be mentioned. For example, a hydroxyl group is converted to a carboxyl group by first converting the hydroxyl group to an alcoholate group using sodium metal, then reacting the alcoholate group with a halogenated aliphatic acid ester such as ethyl bromoacetate before hydrolysis of the formed ester.

[0020] Also, as methods of deprotection of a protecting group, an alkali treatment method, an acid treatment method, and a reduction method are possible. As alkaline compounds to be used in the alkali treatment method, conventional alkaline compounds such as sodium hydroxide, potassium hydroxide, hydrazine, ammonia and the like can be used. As examples of acidic compounds to be used in the acid treatment method, conventional acids such as trifluoromethanesulfonic acid, methanesulfonic acid, trifluoroacetic acid, acetic acid, formic acid, hydrofluoric acid, hydrobromic acid, hydrochloric acid and the like, can be mentioned. Also, to prevent a side reaction, anisole, thioanisole, m-cresol, o-cresol and the like can be added. As methods of reduction, conventional methods of reduction, such as a catalytic hydrogenation, a catalytic hydrogen transfer reduction and the like can be used.

[0021] When the polymer segment (polycarboxylic acid segment), which is to be bonded to a hydrophobic compound, has a polyamino acid structure containing a terminal amino group, the terminal amino group can be modified before reacting with the hydrophobic compound. As methods of modification, conventional methods such as a treatment with an acid anhydride like acetic anhydride and a treatment with an acid halide like acetyl chloride can be mentioned. The modification can be carried out before or after removal of the protecting group.

[0022] By reacting the above-mentioned block copolymer consisting of the hydrophilic polymer segment and the polycarboxylic acid segment with the hydrophobic compound, a micelle-forming high-molecular-weight

block copolymer can be obtained. The hydrophobic compound is bonded to the block copolymer through an ester bonding or an amide bonding. These reactions can be carried out using a conventional esterification or amidation reaction. For example, when the block copolymer (raw material copolymer) consisting of the hydrophilic polymer segment and the polycarboxylic acid segment is to be bonded to the hydrophobic compound through an amide bonding, the reaction can be carried out following a conventional method called a peptide bonding formation method. For example, an acid halide method, an acid anhydride method, a coupling method and the like can be used. Among those methods, the coupling method using a condensation agent is preferable. As examples of the condensation agent, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDC), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride salt (EDC.HCl), dicyclohexylcarbodiimide (DCC), carbonyldiimidazole (CDI), 1-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroxyquinoline (EEDQ), diphenylphosphoryl azide (DPPA) and the like can be mentioned. The condensation agent is used in an amount of preferably 0.5 ~ 20 mol per mol of the hydrophobic compound, or more preferably 1 ~ 10 mol. Also during the reaction, N-hydroxysuccinimide (HONSu), 1-hydroxybenzotriazole (HOBT), N-hydroxy-5-norbornene-2,3-dicarboimide (HONB) and the like can be used together.

[0023] Although there is no restriction in the amount of the hydrophobic compound to be used, it is normally 0.1 ~ 2 mol per 1 equivalent of the carboxyl group in the raw material copolymer.

[0024] The condensation reaction is preferably carried out in a solvent. There is no restriction in the selection of the solvent. For example, N,N-dimethylformamide (DMF), dimethylsulfoxide (DMSO), dioxane, tetrahydrofuran (THF), water and the like and their mixture can be used. Although there is no restriction in the amount of the solvent to be used, it is normally 1 ~ 500 weight parts per 1 weight parts of the raw material copolymer.

[0025] The condensation reaction is carried out preferably at a temperature of -10 ~ 40 °C, or more preferably -5 ~ 30 °C. The reaction time is 2 ~ 48 hours.

[0026] In manufacture of the micelle-forming high-molecular-weight block copolymer, the hydrophobic compound is preferably reacted with and bonded to 1% or more of the total carboxyl groups in the raw material copolymer, or more preferably 5% or more.

[0027] The above-obtained high-molecular-weight block copolymer is mixed with a sparingly water-soluble anticancer drug and appropriately after-treated to form a pharmaceutical preparation (block copolymer-anticancer drug complex) of the present invention.

[0028] As a method of the above treatment, the condensation reaction medium is mixed with an anticancer drug or its solution and the mixture is dialyzed and filtered by ultrafiltration to form an aqueous solution. Or the condensation reaction medium is treated with a poor solvent such as isopropyl ether (IPE) to form a precipitate and the precipitate is dissolved in an appropriate solvent. After the addition of an anticancer

drug or its solution, the mixture is dialyzed and filtered by ultrafiltration. Or the condensation reaction medium is dialyzed and filtered by ultrafiltration before mixed with an anticancer drug or its solution and the mixture is again dialyzed and filtered by ultrafiltration. As a solvent to be used in mixing of the high-molecular-weight block copolymer and the anticancer drug, that which is good solvent for both the high-molecular-weight block copolymer and the anticancer drug and which does not cause micelle formation of the high-molecular-weight block copolymer is preferable. For example, a mixed solvent of DMF and water can be used. Also, when the high-molecular-weight block copolymer is to be mixed with the anticancer drug, the ultrasonic treatment can be carried out.

[0029] Below is an example of the synthesis method of the block copolymer consisting of a hydrophilic polymer segment derived from a polyethylene glycol derivative which is connected with a polyaspartic acid derivative segment having an acetyl group-modified terminal amino group and having an aliphatic amine side chain.

[0030] As shown in the following reaction paths, a ring-opening polymerization of β -benzyl-L-aspartate-N-carboxylic anhydride (BLA-NCA) is carried out in the presence of polyethylene glycol (PEG-NH₂) (preferable molecular weight of 250 ~ 20,000), one end of which having an alkoxy group such as methoxy group while another end of which having 3-aminopropyl group, as an initiator in a solvent such as dimethylformamide, dimethyl sulfoxide, dioxane, chloroform,

block copolymer. As examples of aliphatic amines to be reacted with the side chain of polyaspartic acid through the condensation reaction, an aliphatic alkylamine such as methylamine, an alicyclic amine such as cyclohexylamine, an unsaturated amine, aromatic group-containing aliphatic amine such as benzylamine, and the like, can be mentioned. However, there will be no restriction in the type of amines to be used as long as it will satisfactorily contribute to the hydrophobic anticancer drug-encapsulating power of the block copolymer. Particularly preferable amines are aliphatic amines containing benzene ring, naphthalene ring, benzoquinone ring, naphthoquinone ring, and the like. It can also contain other substituents, besides above-mentioned substituents which can be react with the side chain of polyaspartic acid, without any problem.

[0034] The obtained high-molecular-weight block copolymer is mixed with an anticancer drug in a solvent in which the block copolymer will not form a micelle. After mixing, the high-molecular-weight block copolymer is subjected to micellization and the anticancer drug which is not encapsulated in the core of the block copolymer is removed.

[0035] The pharmacological activity of the pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex of the present invention is very high. When adriamycin is used as an anticancer drug, the anticancer activity of the pharmaceutical preparation of the present invention is dramatically higher than that of adriamycin itself at a similar dosage level as shown in Table 1.

[0036] The pharmaceutical preparation of the present invention can be used in the forms of solid preparation, ointment, liquid preparation, and the like. However, it is normally used as an injection. The dosage frequency is 1 ~ 3 times per week, with total dosages of 10 ~ 200 mg/m²/week.

[0037] [Example]

The present invention will be explained concretely in Examples below.

[0038] Example 1

In 60 mL of N,N'-dimethylformamide (DMF), 5.7 g of β -benzyl-L-aspartate-N-carboxylic anhydride (BLA-NCA) was dissolved. A separately prepared solution of 4.0 g of polyethylene glycol having a methoxy group on one end and 3-aminopropyl group on the other end (PEG-NH₂) (molecular weight 5,100) in 40 mL of DMF was added to the above BLA-NCA solution. The polymerization was carried out while the temperature of the above mixture solution was maintained at 35 °C for 40 hours. After confirming the completion of the polymerization by the HPLC analysis, the reaction medium was mixed with 50 mL of acetic anhydride and 2.5 g of pyridine and the reaction was continued to proceed for another 2 hours at room temperature. The reaction medium was added dropwise into 2 L of isopropyl ether (IPE). The precipitated polymer was recovered by a suction filtration, washed with IPE and vacuum-dried to obtain 8.03 g of N-acetylated polyethylene glycol-poly(β -benzyl-L-aspartate) copolymer (PEG-PBLA-Ac) (Yield 99.4%).

[0039] The hydrolysis of benzyl ester was carried out by suspending 7.0 g of PEG-PBLA-Ac in 0.5 N sodium hydroxide solution at room temperature.

When the copolymer was dissolved, the pH of the solution was adjusted to acidic by acetic acid and the solution was subjected to a dialysis using a dialysis membrane (molecular weight cut-off 1,000) in water. The solution inside the membrane was freeze-dried to obtain 4.44 g of N-acetylated polyethylene glycol-polyaspartic acid block copolymer [PEG-P(Asp.)-Ac] (yield 79%).

[0040] A solution of 195 mg of PEG-P(Asp.)-Ac in 0.5 mL of water was mixed with a solution of 25 mg of cyclohexylamine in 5 mL of DMF. To this mixture, 72 μ L of EDC and 27 mg of N-hydroxysuccinimide (HONSu) were added and the mixture was reacted at room temperature for 24 hours. The reaction medium was added dropwise to 0.2 L of IPE and the formed polymer precipitate was recovered, washed with IPE, and vacuum-dried to obtain 220 mg of micelle-forming high-molecular-weight block copolymer.

[0041] A solution of 160 mg of the obtained micelle-forming high-molecular-weight block copolymer in 8 mL of DMF and 2 mL of water was mixed with 160 mg of adriamycin hydrochloride salt and 40 μ L of triethylamine and the mixture was stirred at room temperature for 2 hours. Then, the mixture was subjected to dialysis in 0.1 M sodium acetate buffer (pH 4.5) using a dialysis membrane (molecular weight cut-off 1,000) for longer than overnight. After dialysis, the mixture was filtered by a ultrafiltration method using Advantec UK-10 (molecular weight cut-off 10,000) to remove adriamycin and other low-molecular-weight materials which were not incorporated into the inner core of the micelle-forming high-molecular-weight block copolymer. The amount of adriamycin in the

obtained block copolymer-anticancer drug complex was 30 mg, which was 18.8% of the initially charged amount of adriamycin. (The result was based on the measurement by HPLC.).

[0042] Example 2

To 1 mL of water, 390 mg of PEG-P(Asp.)-Ac obtained in Example 1 was dissolved and a solution of 108 mg of stearylamine in 10 mL of DMF was added to the above mixture. After the addition of 144 μ L of EDC and 55 mg of HONSu, the mixture was reacted at room temperature for 24 hours. The reaction medium was added dropwise to 0.5 L of IPE and the precipitated polymer was recovered, washed with IPE, and vacuum-dried to obtain 427 mg of a micelle-forming high-molecular-weight block copolymer.

[0043] A solution of 160 mg of the obtained micelle-forming high-molecular-weight block copolymer in 8 mL of DMF and 2 mL of water was mixed with 160 mg of adriamycin hydrochloride salt and 40 μ L of triethylamine and the mixture was stirred at room temperature for 2 hours. Then, the mixture was subjected to dialysis in 0.1 M sodium acetate buffer (pH 4.5) using a dialysis membrane (molecular weight cut-off 1,000) for longer than overnight. After dialysis, the mixture was filtered by a ultrafiltration method using Advantec UK-10 (molecular weight cut-off 10,000) to remove adriamycin and other low-molecular-weight materials which were not incorporated into the inner core of the micelle-forming high-molecular-weight block copolymer. The amount of adriamycin in the obtained block copolymer-anticancer drug complex was 51 mg, which was 32.0% of the initially charged amount of adriamycin. (The result was based on

the measurement by HPLC.).

[0044] [Application Example 1]

The mouse colon 26 adenocarcinoma cell was transplanted subcutaneously in the dorsal region of CDF1 female mouse. When the volume of tumor reached around 100 mm³, the micelle-forming high-molecular-weight block copolymer-anticancer drug complex prepared in Example 1, Example 2, or adriamycin hydrochloride salt(ADR) was administered intravenously once every 4 days in total of 3 times (shown in an arrow in the Figures) and the antitumor activity toward the advanced cancer was studied. Each pharmaceutical preparation was diluted with a physiological saline prior to application. The preparation concentration was based on the concentration of adriamycin. The antitumor effect of the preparation was judged based on the number of mice showing disappeared tumor and the tumor proliferation curve. The results are shown in Table 1 and Figures 1 ~ 3.

[0045] [Table 1]

Table 1.

Antitumor activity toward mouse colon 26 adenocarcinoma

sample	Dosage (mg/kg)	Number of mice with disappeared tumor
Complex Example 1 (anticancer drug)	10	1/3
	5	1/3
Complex Example 2 (anticancer drug)	10	1/3
	5	0/3
ADR	10	0/3

Note) Results at 30 days.

As shown in Figures 1 ~ 3, when adriamycin itself was administered, although control of proliferation of the transplanted tumor was observed,

shrinkage of the tumor was not observed if any at all. On the other hand, in the case of the block copolymer-anticancer drug complex of the present invention (Examples 1 and 2), one out of three mice showed complete disappearance of the tumor after 30 days since the start of the administration at a dosage of 10 mg/kg/day (per one application). The block copolymer-anticancer drug complex exhibited higher pharmacological activity as compared to adriamycin itself.

[0046] [Effect of the Invention]

The pharmaceutical preparation based on the micelle-forming high-molecular-weight block copolymer-anticancer drug complex of the present invention contains an anticancer agent in the inner core of its micelle without bonding, enabling reduced dosage and improved antitumor activity than the anticancer drug itself. Therefore, the present invention provides an extremely useful pharmaceutical preparation.

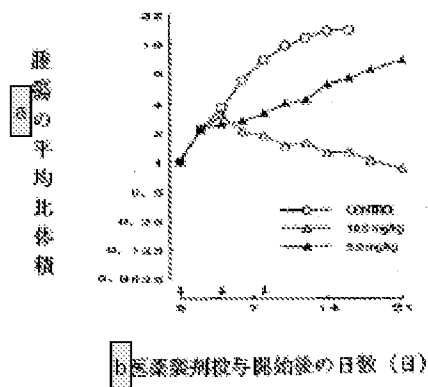
[Brief Explanation of the Invention]

[Figure 1] The proliferation curve of the mouse colon 26 adenocarcinoma when the pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex (Example 1) was administered.

[Figure 2] The proliferation curve of the mouse colon 26 adenocarcinoma when the pharmaceutical preparation based on the block copolymer-anticancer drug complex (Example 2) was administered.

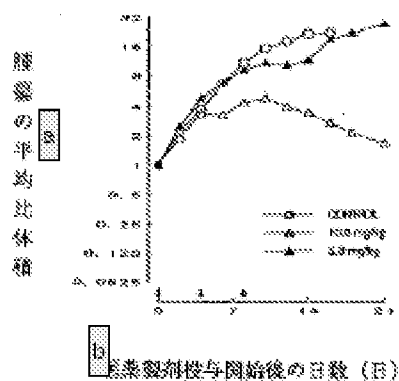
[Figure 3] The proliferation curve of the mouse colon 26 adenocarcinoma when adriamycin hydrochloride salt was administered.

Figure 1



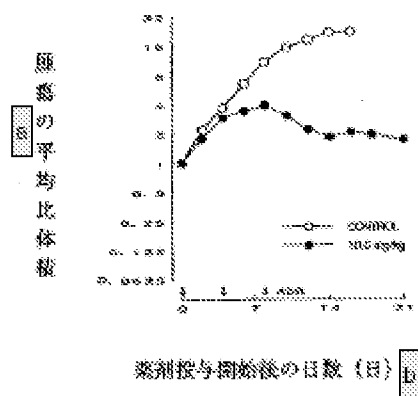
Key: a) Average relative volume of tumor; b) Elapsed days after the start of the administration of the pharmaceutical preparation

Figure 2



Key: a) Average relative volume of tumor; b) Elapsed days after the start of the administration of the pharmaceutical preparation

Figure 3



Key:

- a) Average relative volume of tumor
- b) Elapsed days after the start of the administration of the pharmaceutical preparation

(19)日本国特許庁(J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-206815

(43)公開日 平成 6 年(1994) 7 月26日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 9/107	B	7329-4C		
31/71		8314-4C		
31/765		8314-4C		
45/00	A D U	8415-4C		
47/34	Z	7433-4C		

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 8 頁) 最終頁に続く

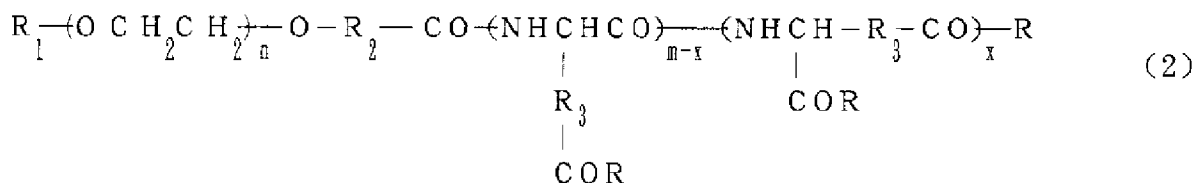
(21)出願番号	特願平5-261124	(71)出願人	000004086 日本化薬株式会社 東京都千代田区富士見 1 丁目11番 2 号
(22)出願日	平成 5 年(1993)10月19日	(71)出願人	591265312 桜井 靖久 東京都杉並区永福 3 -17- 6
(31)優先権主張番号	特願平4-310904	(71)出願人	390014535 新技術事業団 埼玉県川口市本町 4 丁目 1 番 8 号
(32)優先日	平 4 (1992)10月26日	(72)発明者	横山 昌幸 千葉県松戸市新松戸 3 -170、M B S ハイ ツ B -201
(33)優先権主張国	日本(J P)	(74)代理人	弁理士 川口 義雄 (外 2 名) 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ブロック共重合体-抗癌剤複合体医薬製剤

(57)【要約】

【目的】 水に難溶性の抗癌剤の溶解性を高め、かつその抗癌剤にはない高い薬理効果を有する高分子-抗癌剤複合体医薬製剤を得ること。

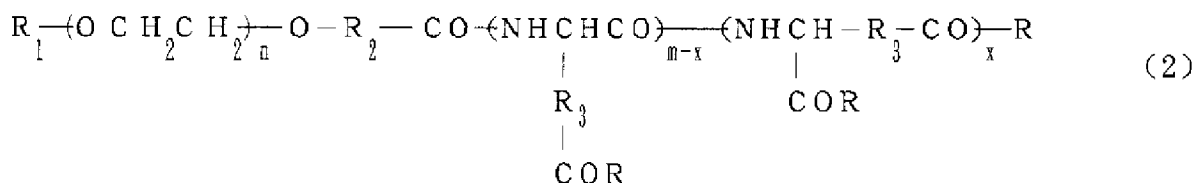
【構成】 親水性高分子構造部分と高分子カルボン酸部分とを有するブロック共重合体の高分子カルボン酸部分の側鎖であるカルボキシル基に抗癌剤以外の疎水性化合物を結合させることにより得られる親水性高分子構造部分と抗癌剤が結合していない疎水性高分子構造部分とを有する高分子ブロック共重合体が、親水性高分子構造部分を外核としたミセルを形成し、疎水性の内核に水に難溶性の抗癌剤を含有することを特徴とするブロック共重合体-抗癌剤複合体医薬製剤。



【0004】

【０００５】即ち、本発明は、（１） 親水性高分子構造部分と高分子カルボン酸部分とを有するブロック共重合体の高分子カルボン酸部分の側鎖であるカルボキシル基に抗癌剤以外の疎水性化合物を結合させることにより得られる親水性高分子構造部分と抗癌剤が結合していない疎水性高分子構造部分とを有する高分子ブロック共重合体が、親水性高分子構造部分を外核としたミセルを形成し、疎水性の内核に水に難溶性の抗癌剤を含有することを特徴とするブロック共重合体－抗癌剤複合体医薬製剤、（２） 親水性高分子構造部分がポリエチレングリコール構造を有する、上記（１）記載のブロック共重合体－抗癌剤複合体医薬製剤、（３） 疎水性高分子構造部分がポリアミノ酸又はその塩構造でその側鎖部分に脂肪族及び／又は芳香族の残基を有する、上記（１）又は（２）記載のブロック共重合体－抗癌剤複合体医薬製剤、（４） 抗癌剤がアンスラサイクリン系抗癌剤である上記（１）、（２）又は（３）記載のブロック共重合体－抗癌剤複合体医薬製剤、（５） 抗癌剤がアドリAMYCINである上記（１）、（２）又は（３）記載のブ

体医薬製剤、
【0006】
【化2】



ル等の芳香族チオール、エタンチオール、フェニルメタンチオール等の脂肪族チオール等が挙げられるがこれらに限定されず、側鎖に結合することができ、高分子カルボン酸部分に疎水性にすることができるものであれば、いずれも使用できる。これらは、エステル結合あるいはアミド結合等により高分子カルボン酸部分の側鎖（カルボキシル基）に結合される。

【0012】高分子ブロック共重合体は、水溶性である限りその分子量は特に限定されないが、好ましくは1000～100000、特に好ましくは5000～50000である。高分子ブロック共重合体中の親水性高分子構造部分と疎水性高分子構造部分の割合は、本発明の医薬剤の水溶性が保たれる限り特に限定されないが、好ましくは1：0.1～10（重量比）、特に好ましくは1：0.2～5（重量比）である。

【0013】前記式(1)又は(2)において、 R_1 は低級アルキル基又は水素を表すが、好ましいものはメチル基である。又、 R_2 はブロック共重合体—抗癌剤複合体の水溶性を損なわない限り特に限定されず又必ずしも必要要件でない。例えばメチレン基($-\text{CH}_2-$)、エチレン基($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、プロピレン基($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$)、トリメチレン基($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$)、ブチレン基($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$)等の炭素数1~8、好ましくは炭素数2~4のアルキレン基等があげられる。

【0014】又、 n は5～1,000であるが、好ましくは15～400であり、 m は2～300であるが、好ましくは10～100であり、 x は0～300であるが、好ましくは0～100である。

【0015】高分子ブロック共重合体のミセルの疎水性の内核に含有させる抗癌剤としては、アドリマイシン、ダウノマイシン、ビンルビン、メトトレキサート、マイトマイシンC、エトポシド、シスプラチン等、及びその誘導体があげられるがこれらに限定されるものではない。

【0011】疎水性高分子構造部分としては、例えばポリアミノ酸（ポリアスパラギン酸、ポリグルタミン酸等）、ポリアクリル酸、ポリメタクリル酸、ポリマレイン酸等の高分子カルボン酸の側鎖に芳香族アミン、脂肪族アミン、芳香族アルコール、脂肪族アルコール、芳香族チオール、脂肪族チオール等の疎水性化合物の残基が結合した構造又はその塩（ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩等）構造があげられる。高分子カルボン酸の側鎖（カルボキシル基）に結合させる疎水性化合物としては、例えばアニリン等の芳香族アミン、プロピルアミン、ステアリルアミン等の脂肪族アミン、ナフトール等の芳香族アルコール、ラウリルアルコール、ベンジルアルコール等の脂肪族アルコール、ベンゼンチオー

ない。

【0016】ブロック共重合体—抗癌剤複合体中の抗癌剤の含有量はブロック共重合体に対して好ましくは1～200重量%であり、特に好ましくは2～60重量%である。しかしながら、ブロック共重合体—抗癌剤複合体のミセル形成能を損なわない限り、可能な限り多く含有させることに何等問題はない。

【0017】本発明の医薬製剤は、例えば次のようにして製造することができる。

【0018】即ち、親水性高分子構造部分を構成することになる化合物（例えば、ポリエチレングリコール、ポリサッカライド、ポリアクリルアミド、ポリメタクリルアミド、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、キトサンあるいはこれらの誘導体）またはその末端を変性したものにカルボキシル基または保護基で保護されたカルボキシル基を有する高分子化合物を反応させ、その後保護基を含むものは保護基を除去することにより、または親水性高分子構造部分を構成することになる化合物またはその末端を変性したものと重合性カルボン酸またはその誘導体のモノマーを反応させ、保護基を含むものは保護基を除去することにより、親水性高分子構造部分と高分子カルボン酸部分を有するブロック共重合体を得、これに疎水性化合物を反応させ、得られたミセル形成性高分子ブロック共重合体の疎水性の内核に水に難溶性の抗癌剤を含ませることにより得ることができる。

【0019】親水性高分子構造部分を構成することになる化合物の末端の変性は、公知の方法によって行なうことができ、例えば水酸基をアミノ基に変換する方法として、エチレンイミンを反応させる方法、アクリロニトリルやメタクリロニトリルをマイケル付加後、ニトリル基を還元しアミノ基に変換する方法、水酸基をハロゲン基に置換した後、エタノールアミン等のアルコールアミンを反応する方法、または水酸基を直接ニトリル基に変換後、還元しアミノ基に変換する方法等で行うことができる。また、水酸基をカルボキシル基に変換する方法として、通常の酸化反応、縮合反応、付加反応、加水分解反応、又はこれらを組合せた反応等を採用できる。例えば、水酸基を金属ナトリウムでアルコラートした後、ブロモ酢酸エチル等のハロゲン化脂肪酸エステルを付加し、その後加水分解する方法で水酸基をカルボキシル基に変換することが出来る。

【0020】また、保護基を除去する方法は、アルカリによる方法、酸による方法及び還元法で可能である。アルカリ法で用いるアルカリ性物質としては、カセイソーダ、カセイカリ、ヒドラジン、アンモニア等通常のアルカリ性物質を用いることができる。酸法で用いる酸性物質としては、トリフルオロメタンスルホン酸、メタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸、酢酸、ギ酸、フッ化水素酸、臭化水素酸、塩化水素酸等の通常の酸性物質を用い

ることができる。また副反応を防止するため、アニソール、チオアニソール、m-クレゾール、o-クレゾール等を加えることもできる。還元法としては、接触還元法、接触水素移動還元法等一般的な方法を用いることができる。

【0021】また、疎水性化合物を結合せしめる高分子構造部分（高分子カルボン酸部分）が、末端にアミノ基を有するポリアミノ酸構造である場合、末端アミノ基を修飾した形で疎水性化合物と反応させることもできる。修飾法としては無水酢酸等の酸無水物または塩化アセチル等の酸ハロゲン化物等を用いる公知の方法が挙げられる。修飾は保護基を除去する前でも後でもどちらでも可能である。

【0022】このようにして得られた親水性高分子構造部分と高分子カルボン酸部分を有するブロック共重合体に疎水性化合物を反応させることによりミセル形成性高分子ブロック共重合体を得られる。疎水性化合物はエステル結合又はアミド結合等を形成することによりブロック共重合体に結合する。これらの反応は公知のエステル化又はアミド化等の常法に従って行うことができる。例えば、親水性高分子構造部分と高分子カルボン酸部分を有するブロック共重合体（原料共重合体）にアミド結合で疎水性化合物を結合させる際、反応はペプチド結合生成法として知られる常法に準じて行うことができる。例えば、酸ハロゲン化物法、酸無水物法、カップリング法等が使用できるが、縮合剤を使用するカップリング法が望ましい。縮合剤としては、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC・HCl)、ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、カルボニルジイミダゾール(CDI)、1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1,2-ジヒドロキシキノリン(EEDQ)、ジフェニルホスホリルアジド(DPPA)等が使用できる。縮合剤は、疎水性化合物に対して0.5～20倍モル用いるのが好ましく、特に1～10倍モル用いるのが好ましい。またこの際、N-ヒドロキシサクシンイミド(HONSu)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)、N-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2,3-ジカルボン酸イミド(HONB)等を共存させてもよい。

【0023】疎水性化合物の使用量は特に限定されないが、通常原料共重合体のカルボキシル基1当量に対し、0.1～2モル用いる。

【0024】縮合反応は溶媒中で行うのが好ましく、溶媒としては、例えば、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、ジオキサン、テトラヒドロフラン(THF)、水及びそれらの混合溶媒等種々のものが使用でき、特に限定されない。溶媒の使用量は特に限定されないが、通常原料共重合体に対して1～500重量倍用いる。

【0025】縮合反応は、 $-10 \sim 40^\circ\text{C}$ で行うのが好ましく、特に、 $-5 \sim 30^\circ\text{C}$ で行うのが好ましい。反応は2～48時間行えば十分である。

【0026】例えばこのようにして得られるミセル形成性高分子ブロック共重合体において、疎水性化合物は原料共重合体の全カルボキシル基の1%以上のカルボキシル基と反応し結合していることが好ましく、特に5%以上のカルボキシル基と反応し結合していることが好ましい。

【0027】このようにして得られる高分子ブロック共重合体に、水に難溶性の抗癌剤を添加した後、適当な処理をすることにより、本発明の医薬製剤（ブロック共重合体-抗癌剤複合体）が得られる。

【0028】処理の方法としては、縮合反応液に抗癌剤またはその溶液を添加したものを透析、限外濾過することにより、水溶液とする方法が挙げられる。あるいは縮合反応液をイソプロピルエーテル（IPE）等の貧溶媒で沈析した後適当な溶媒に溶解し、抗癌剤又はその溶液を添加し、透析、限外濾過してもよい。あるいは縮合反応液を透析、限外濾過した後、抗癌剤又はその溶液を添加し、再度透析、限外濾過してもよい。高分子ブロック共重合体と抗癌剤を混合する際用いる溶媒としては、高分子ブロック共重合体と抗癌剤を共によく溶解するものが好ましく、加えて高分子ブロック共重合体がミセルを形成しないものがより好ましい。例えばDMFと水の混合溶媒等が挙げられる。また、高分子ブロック共重合体と抗癌剤を混合する際、超音波照射等の処理を行ってもよい。

【0029】以下に、ポリエチレングリコール誘導体由来の親水性高分子構造部分と、末端のアミノ基をアセチル基で修飾したポリアスパラギン酸の側鎖に脂肪族アミ

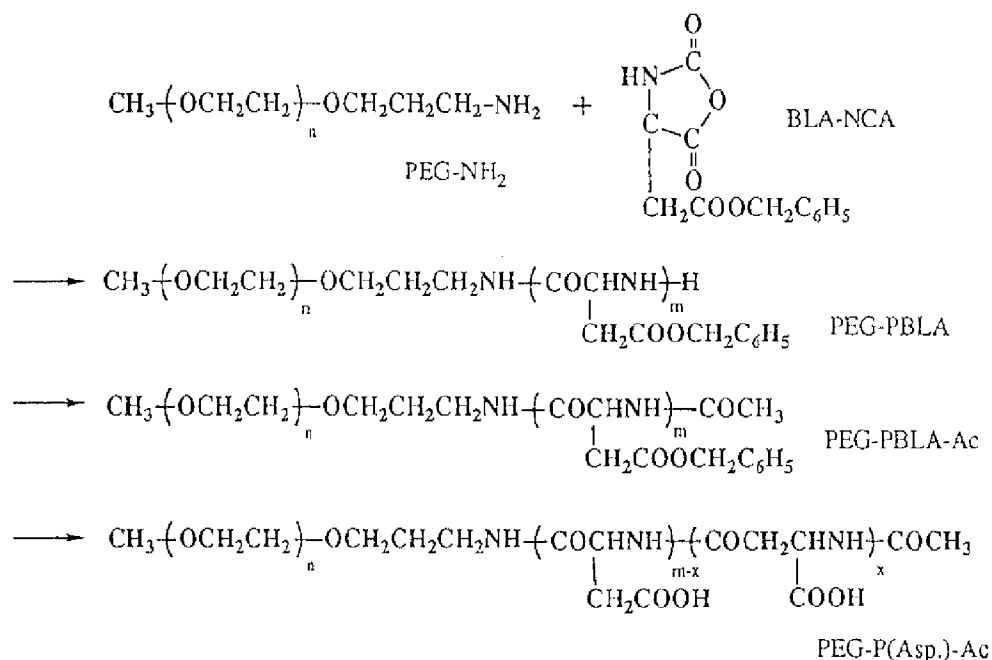
ン類を結合したブロック共重合体を例にとり、その合成法を詳しく述べる。

【0030】このブロック共重合体の合成は、以下の反応式に示すごとく β -ベンジル-L-アスパルテート-N-カルボン酸無水物（BLA-NCA）を、片末端にメトキシ基等のアルコキシ基を有し、他の末端に3-アミノプロピル基を有するポリエチレングリコール（PEG-NH₂）（好ましくは分子量250～20,000）を開始剤として、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、ジオキサン、クロロホルム、テトラヒドロフラン、アセトニトリル等の溶媒中で開環重合させ、ポリエチレングリコール-ポリ（ β -ベンジル-L-アスパルテート）ブロック共重合体（PEG-PBLA）を得、ついでこの重合溶液に無水酢酸とトリエチルアミン等の第三級アミンを加え末端のアミノ基をアセチル基で修飾し、ポリエチレングリコール-ポリ（ β -ベンジル-L-アスパルテート）ブロック共重合体N-アセチル化物（PEG-PBLA-Ac）を得る。このPEG-PBLA-Acのベンジルエステルを加水分解してポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体N-アセチル化物（PEG-P（Asp.）-Ac）を得る。

【0031】また末端のアミノ基の修飾はPEG-PBLAを得、次いでベンジルエステルを加水分解してPEG-P（Asp.）を得た後、無水酢酸とトリエチルアミン等の第三級アミンを加え末端のアミノ基をアセチル基で修飾することによりPEG-P（Asp.）-Acを得ることもできる。

【0032】

【化3】



【0033】その後加水分解後のポリアスパラギン酸の

側鎖にアミン類を反応させミセル形成性高分子ブロック

共重合体を得る。ポリアスパラギン酸の側鎖に縮合させる脂肪族アミン類としては、メチルアミンに代表される脂肪族アルキルアミン、シクロヘキシルアミンに代表される脂環式アミン、不飽和アミン、ベンジルアミンに代表される芳香環を有する脂肪族アミン等があげられるが、疎水性抗癌剤を十分に保持することを可能せしめた構造であれば特に限定されない。特に好ましくはベンゼン環、ナフタレン環、ベンゾキノロン環、ナフトキノロン環等の芳香環を有する脂肪族アミンであり、ポリアスパラギン酸の側鎖に結合し得る置換基以外に置換基を有することに何等問題はない。

【0034】その後この高分子ブロック共重合体がミセルを形成しない溶媒条件下において、抗癌剤と混合する。混合後高分子ブロック共重合体をミセル化し、内核に含有していない抗癌剤を除去する。

【0035】本発明のブロック共重合体-抗癌剤複合体医薬製剤の薬理活性は高く、例えば、抗癌活性は、表1に示すように、元のアドリアマイシンと投与量にあまり差がないにもかかわらず画期的に高いものである。

【0036】本発明の医薬製剤は、一般的に使用される種々の剤型例えば固形剤、軟膏、液剤などの形で使用しうるが、通常注射剤として使用され、その投与量は1週間当たり1~3回投与で、総量10~200mg/m² 週程度である。

【0037】

【実施例】次に実施例により本発明を具体的に説明する。

【0038】実施例1

β -ベンジル-L-アスパルテート-N-カルボン酸無水物(BLA-NCA) 5.7gをN,N'-ジメチルホルムアミド(DMF) 60mLに溶解する。片末端メトキシ基片末端3-アミノプロピル基のポリエチレングリコール(PEG-NH₂) (分子量5,100) 4.0gをDMF 40mLに溶解し、その溶液をBLA-NCA溶液に加える。混合溶液を35℃に保ちながら40時間重合した。HPLC分析で重合反応が終了したことを確認したのち、無水酢酸50mL、ピリジン2.5gを加え室温で2時間反応する。反応混合物をイソプロピルエーテル(IPE) 2Lに滴下して沈澱したポリマーを吸引濾過により回収し、IPEで洗浄した後に真空乾燥してポリエチレングリコール-ポリ(β -ベンジル-L-アスパルテート)ブロック共重合体N-アセチル化物(PEG-PBLA-Ac) 8.03g(収率99.4%)を得た。

【0039】PEG-PBLA-Ac 7.0gを0.5N水酸化ナトリウムに懸濁しながら室温でベンジルエステルを加水分解する。コポリマーが溶解した後、酢酸でpHを酸性とし、透析膜(分画分子量1,000)を用いて水中で透析する。膜内の溶液を凍結乾燥してポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合

体N-アセチル化物(PEG-P(Asp.)-Ac) 4.44g(収率79%)を得た。

【0040】PEG-P(Asp.)-Ac 195mgを水0.5mLに溶解する。そこにシクロヘキシルアミンを25mg、DMF 5mLに溶解したものを加える。ここにEDC 72 μ LとN-ヒドロキシサクシンイミド(HONSu) 27mgを加え、室温で24時間反応させる。反応混合液をIPE 0.2Lに滴下して沈澱したポリマーを回収し、IPEで洗浄後に真空乾燥してミセル形成性高分子ブロック共重合体220mgを得る。

【0041】ミセル形成性高分子ブロック共重合体160mgをDMF 8mLと水2mL中に溶解し、アドリアマイシン塩酸塩160mgとトリエチルアミン40 μ Lを加え、室温で2時間混合させる。混合液を透析膜(分画分子量=1,000)を用いて0.1M酢酸ナトリウム緩衝液(pH4.5)中で1晩以上透析する。透析後、ADVANTEC UK-10(分画分子量=10,000)で限外濾過してミセル形成性高分子ブロック共重合体の内核に含有されないアドリアマイシンやその他の低分子物質を除く。得られたミセル形成性高分子ブロック共重合体-抗癌剤複合体中の含有アドリアマイシン量は30mgで仕込量の18.8%(HPLC測定により)であった。

【0042】実施例2

実施例1で得たPEG-P(Asp.)-Ac 390mgを水1mLに溶解する。そこにステアリルアミンを108mg、DMF 10mLに溶解したものを加える。ここにEDC 144 μ LとHONSu 55mgを加え、室温で24時間反応させる。反応混合液をIPE 0.5Lに滴下して沈澱したポリマーを回収し、IPEで洗浄後に真空乾燥してミセル形成性高分子ブロック共重合体427mgを得る。

【0043】ミセル形成性高分子ブロック共重合体160mgをDMF 8mLと水2mL中に溶解し、アドリアマイシン塩酸塩160mgとトリエチルアミン40 μ Lを加え、室温で2時間混合させる。混合液を透析膜(分画分子量=1,000)を用いて0.1M酢酸ナトリウム緩衝液(pH4.5)中で1晩以上透析する。透析後、ADVANTEC UK-10(分画分子量=10,000)で限外濾過してミセル形成性高分子ブロック共重合体に含有されないアドリアマイシンやその他の低分子物質を除く。得られたミセル形成性高分子ブロック共重合体-抗癌剤複合体中の含有アドリアマイシン量は51mgで仕込量の32.0%(HPLC測定により)であった。

【0044】応用例1

CDF1メスのマウスの背側部皮下にマウス大腸癌Colon26細胞を移植し、腫瘍の体積が100mm³前後に達した時点から実施例1又は2で合成したミセル形成性高分子ブロック共重合体-抗癌剤複合体又はアドリ

アマイシン塩酸塩（ADR）を4日間隔1回、計3回静脈内にて投与（図中、矢印で示す）し、進行癌に対する効果を検討した。各薬剤は生理食塩水で用時希釈して用いた。薬剤濃度はアドリアマイシン換算濃度とした。薬

剤の抗腫瘍効果は、腫瘍消失マウス数と腫瘍増殖曲線から判定した。結果を表1と図1～3に示す。

【0045】

【表1】

表1 マウス大腸癌Colon26に対する抗癌活性

サンプル	投与量 (mg/kg)	腫瘍消失マウス
実施例1の複合体（抗癌剤）	10	1/3
	5	1/3
実施例2の複合体（抗癌剤）	10	1/3
	5	0/3
ADR	10	0/3

30日までの結果

図1～3から明らかなように、アドリアマイシンを投与した場合、移植した腫瘍の増殖抑制効果は認められるものの、腫瘍の縮小はほとんど認められなかった。それに対し、本発明のブロック共重合体－抗癌剤複合体（実施例1及び2）の場合、10mg/kg/day（1回当り）投与で投与後30日で3匹中1匹において移植した腫瘍の完全消失が認められ、アドリアマイシンのみと比較してより高い薬理効果が認められた。

【0046】

【発明の効果】本発明のミセル形成性高分子ブロック共重合体－抗癌剤複合体医薬製剤は、抗癌剤を高分子に結合することなくミセル内核に取り込ませることにより、

投与量の軽減をはかり、抗癌剤本来の薬効以上の抗腫瘍活性を持たせることに成功していることより、本発明により極めて有用な医薬製剤を提供できるものである。

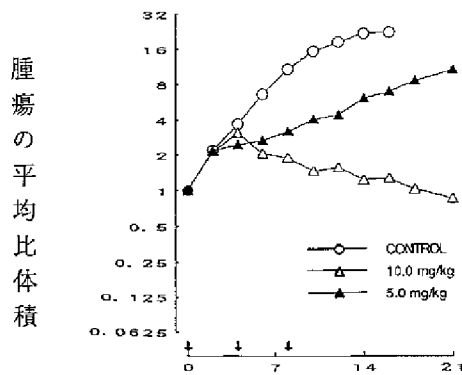
【図面の簡単な説明】

【図1】ブロック共重合体－抗癌剤複合体医薬製剤（実施例1）を投与した場合の、マウス大腸癌Colon26の腫瘍増殖曲線である。

【図2】ブロック共重合体－抗癌剤複合体医薬製剤（実施例2）を投与した場合の、マウス大腸癌Colon26の腫瘍増殖曲線である。

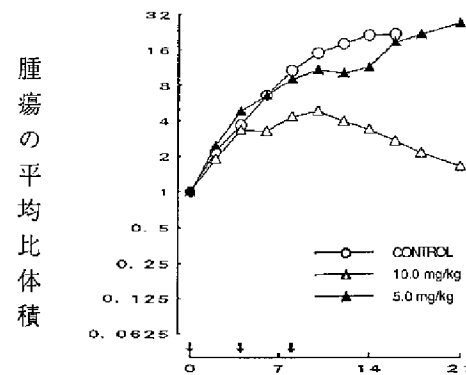
【図3】アドリアマイシン塩酸塩を投与した場合の、マウス大腸癌Colon26の腫瘍増殖曲線である。

【図1】



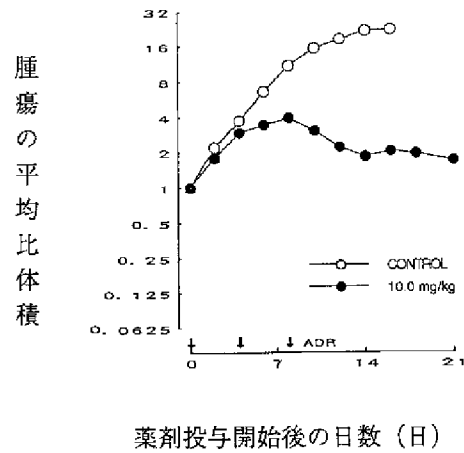
医薬製剤投与開始後の日数（日）

【図2】



医薬製剤投与開始後の日数（日）

【図3】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
// C 0 8 G 81/00	N U S	8416-4 J		
(72)発明者 片岡 一則 千葉県柏市大室1083-4、柏ビレジ141-9			(72)発明者 福島 重人 群馬県高崎市岩鼻町239	
(72)発明者 岡野 光夫 千葉県市川市国府台6-12-12			(72)発明者 町田 芽久美 埼玉県深谷市上野台36-3	
(72)発明者 桜井 靖久 東京都杉並区永福3-17-6			(72)発明者 浴本 久雄 東京都北区志茂2-11-1-803	
(72)発明者 ▲勢▼藤 隆 群馬県前橋市下川町45-3			(72)発明者 岡本 一也 東京都荒川区東尾久5-7-10-305	
			(72)発明者 真柴 洋子 東京都北区志茂3-29-11	